

[11] Japanese Patent No. 2853165
[24] Issue Date: November 20, 1998
[21] Japanese Patent Application No. 1-135363
[22] Filing Date: May 29, 1989
[65] Publication Number: 3-69
[43] Publication Date: January 7, 1991
[73] Patentee: AJINOMOTO CO INC
[72] Inventors: Otohiko WATABE et al.
[54] Title of the Invention: BODY TISSUE ADHESION
PREVENTION FILM

* * * * *

[JP,2853165,B]

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

(57) [Claim(s)]

[Claim 1] Body tissue adhesion prevention film characterized by containing a fibrous cellulose with a width of face of 20-50nm which a microorganism produces [claim 2] An adhesion inhibitor, a blood coagulation inhibitor, and body tissue adhesion prevention film given in a claim (1) characterized by the thing of a proteolytic enzyme for which a kind is contained at least

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

(Field of the Invention)

This invention relates to the new body tissue adhesion prevention film characterized by containing the cellulose which a microorganism produces.

The thing of the shape of film of the cellulose which the microorganism of this invention produces is used for adhesion prevention of body tissue as the complex.

(Prior art)

Usually, it cannot paste up mutually and membrane in the living body etc. can exercise freely, even when such membrane etc. touches mutually in the inside of the body. For example, the intraperitoneal intestinal tract film and abdominal wall peritoneum have not carried out adhesion, although it is in contact. However, when *** change is excited by a certain external factor (for example, perform a surgical operation in the living body etc.), an adhesion phenomenon may start such a part according to it. This is for a fibrin etc. to carry out deposition to the contact surface of an organization

with recovery of **** change. For this reason, ileus etc. might be induced after the intestinal tract etc. adhered to other parts, for example, and this resulting.

Approaches various until now are tried as an approach of preventing such adhesion. First, adhesion inhibitors, such as screens, such as gutta-percha and gelatin film, a liquid paraffin, chondroitin sulfate, a urea, nitromin, a camphor oil, and an OREFU oil, etc. might be used in order to prevent adhesion of the peritoneum. Moreover, in order to prevent the deposit deposition of a fibrin which participates in adhesion, proteolytic enzymes, such as antisets, such as JIKURO marl, heparin, a sulfation polysaccharide, and JIKURO marl, and a trypsin, etc. might be used. Moreover, cortisone, ACTH, etc. were prescribed for the patient other than these, and irradiating an X-ray was also known.

However, it could not say above that it was enough for any approach or material to also prevent adhesion, and an approach or a material which are satisfactory were not known to current.

(Object of the Invention)

The purpose of this invention is to offer the material which prevents adhesion of the body tissues accompanying a **** change in the living body.

(The means for solving a technical problem)

The technical problem of this invention is solvable by using the cellulose of the shape of film with which the fibrous cellulose with a width of face of 20–50nm which a microorganism produces became entangled.

The film of this invention may contain at least one sort of an adhesion inhibitor, a blood coagulation inhibitor, and a proteolytic enzyme. That is, adhesion can be prevented if the high part of possibility that adhesion will take place is covered with this cellulose as a screen at the time of an operation. Moreover, it is possible by sinking an adhesion inhibitor, a blood coagulation inhibitor, a proteolytic enzyme, etc. into this cellulose to check the deposit deposition of the protein leading to adhesion [**** / preventing inflammation], and to prevent adhesion still more effectively.

Constituents other than the cellulose in the case of heteropolysaccharide whose celluloses which the microorganism used as a raw material of this invention produces are the things containing the glucan containing the heteropolysaccharide which used the cellulose and the cellulose as the principal chain, such as a thing, and beta, alpha, are hexose, such as a mannose, fructose, a galactose, a xylose, arabinose, rhamnose, and uronic acid, pentose, an organic acid, etc. These polysaccharides may be single matter and two or more kinds of polysaccharides may be intermingled. If a cellulose is above, it is good anything.

Although it is not limited, if an example is raised, especially the microorganism that produces such a cellulose *Acetobacter aceti* subSPISHISU KISHIRINAMU (*Acetobacter aceti* subsp. *xylinum*) ATCC10821 or this PASUTORI anus (*A. pasteurianus*), This run sense (*A. ransens*), *Sarcina ventriculi* (*Sarcina ventriculi*), *Bacterium xylo IDESU* (*Bacterium xyloides*), the *Pseudomonas* bacteria, the *Agrobacterium* bacteria, the *Rhizobium* bacteria, etc. can be used.

What is necessary is just to follow the general method of cultivating the usual bacteria using the above-mentioned microorganism for generation are recording of a cellulose. Namely, what is necessary is just to add the usual nutrition ***** containing organic micronutrient, such as amino acid and a vitamin, a carbon source, a nitrogen source, mineral, and if needed [other]. What is necessary is just to cultivate by controlling at 20 degrees C thru/or 40 degrees C about temperature.

As the culture approach, the above-mentioned bacillus is inoculated into the above-mentioned culture medium with common stationary culture, and if it will cultivate during January, the cellulose of the shape of film which carried out one day thru/or gel which contained about 90% or more of liquid component on the surface of culture medium will generate. The thickness of this film is 0.01 thru/or 20mm. Thus, since the generated cellulose also contains a fungus body and a culture-medium component with a liquid component, it should just remove a dilute alkali, a dilute acid, an organic solvent, hot water, a surfactant, etc. for the independent or antigenic matter harmful when it puts into the inside of the body by washing by combining, pyrogen, etc.

It is known that such a cellulose has the structure with which the overly detailed fibrous cellulose with a width of face of 20–50nm became entangled intricately according to electron microscope observation. Since the about 10 to 200 times as many liquid component as fiber weight is included in the complicated tangle of this fiber, the appearance is presenting the shape of gel or leather.

Moreover, once it dries the cellulose produced by doing in this way, in order that the fiber of the shape of a thin ribbon which constitutes the gel cellulose may adhere mutually by hydrogen bond, it becomes the shape of an upright film, but in order to prepare hardness, a flexible-ized agent like a glycerol may be added and hardness may be prepared. Moreover, if freeze drying, critical point desiccation, desiccation after a solvent permutation, etc. are performed in the case of desiccation so that such hydrogen bond may not be caused, the thing of the porosity instead of the shape of an upright film will be made. Since liquid components, such as a physiological saline, are infiltrated into this thing, it can also be used.

Since such [as mentioned above] a cellulose can contain a lot of liquid components between fiber, if needed, it is making at least one or more of an adhesion inhibitor, antiset, and the proteolytic enzymes contain, and can also prevent adhesion still more effectively.

As an adhesion inhibitor used, TORIBUSHIN, a vanillin, etc. are used as proteolytic enzymes, such as JIKURO marl, heparin, a sulfation polysaccharide, and JIKURO marl, as antisets, such as screens, such as gutta-percha and gelatin film, a liquid paraffin, chondroitin sulfate, a urea, nitromin, a camphor oil, and an OREFU oil. Moreover, other drugs, cortisone, ACTH, etc. may be made to contain. Or more both of these drugs are made to contain, and may be used.

The approach of content is immersed in the liquid component in which the above-mentioned drugs were dissolved in the aforementioned cellulose, or after it once presses a gel cellulose and presses out an internal liquid component, it should just be immersed. Since the liquid component in a gel cellulose is usually the solvent of a hydrophilic property in many cases, the content of drugs of the case of the component which dissolves only in an oleophilic solvent is attained by an organic solvent's etc. once permuting the liquid inside a gel cellulose, or adding a surfactant. Since the cellulose is presenting gel as stated previously, there is also a secondary effect of the drug delivery that the drugs made to contain ooze out outside gradually. In order to use such effectiveness positively, it is possible to cover other polymeric materials etc. to a gel cellulose, or to also make it contain. As polymeric materials, two or more macromolecules, such as protein systems, such as a polyvinyl alcohol system, a polyvinyl-pyrrolidone system, a polyacrylic acid system, a starch system, a cellulosic system, gelatin, and a collagen, are used.

(Example)

An example explains this invention below.

Example 1. After carrying out the autoclave of the 120 degrees C of the culture media of a presentation of shoe cloth 5 g/dl, yeast extract (Difco) 0.5 g/dl, ammonium-sulfate 0.5 g/dl, phosphoric-acid 1 potassium 0.3 g/dl, and magnesium sulfate 7 monohydrate 0.05 g/dl (pH5.0) for 20 minutes, *Acetobacter aceti* subSUBISHISU KISHIRINAMU (ATCC10821) was inoculated by 1×10^4 concentration/ml. 400ml of this liquid was put into the with a 20-centimeter depth [square and a depth of 5 centimeters] stainless steel container which carried out the autoclave beforehand, and it cultivated for three days at 30 degrees C in air. The gel film-like cellulose with a thickness of about 2mm generated on the culture medium front face. It boiled in 2% sodium-hydroxide solution of the amount of 10 times after

collecting these for 1 hour. This boiling actuation was repeated 3 times. This actuation removed the fungus body and the culture-medium component. The film-like cellulose after boiling was washed until pH became neutrality with superfluous water.

After inserting this washed film-like cellulose between the intraperitoneal intestinal tract of a rat, and the abdominal wall, the progress after an operation was observed. When it investigated whether adhesion would have taken place to 1 previous month, adhesion did not take place to adhesion having taken place the place which did not sandwich a cellulose the place across which it faced. Moreover, when the gelatin film was used as control, a part of dissolution of gelatin and adhesion of an organization were observed.

Example 2. Adhesion was prevented when generation of adhesion by intraperitoneal [of a rat] was observed like the example 1, after soaking the washed film-like cellulose which was prepared in the example 1 in the heparin physiological saline solution for ten days 1%. Moreover, since heparin began to have melted gradually from a cellulose also in the part which did not sandwich a cellulose, adhesion was controlled. (Effect of the invention)

Adhesion can be checked by using the body tissue adhesion prevention film of this invention as a screen. Moreover, adhesion prevention can also be performed still more effectively by sinking in the conventional adhesion prevention drugs.

[Translation done.]

(11)【特許番号】第2853165号	
(24)【登録日】平成10年(1998)11月20日	
(45)【発行日】平成11年(1999)2月3日	
(54)【発明の名称】体組織癒着防止膜	
(51)【国際特許分類第6版】	
A61L 15/64	
31/00	
【請求項の数】2	
【全頁数】3	
(21)【出願番号】特願平1-135363	
(22)【出願日】平成1年(1989)5月29日	
(66)【公開番号】特開平3-69	
(43)【公開日】平成3年(1991)1月7日	
【氏名又は名称】味の素株式会社	
(72)【発明者】	
【氏名】渡部 乙比古	
【氏名】山中 茂	
(74)【代理人】田中 政浩	
【文献】特開 昭59-120159 (JP, A)	
【文献】特開 昭62-47364 (JP, A)	
【文献】特開 昭62-183763 (JP, A)	
【文献】特表 昭62-500630 (JP, A)	
(58)【調査した分野】(Int. Cl. 6, DB名)	
A61L 15/00	
A61L 31/00	
A61L 27/00	
(57)【特許請求の範囲】	
【請求項1】微生物が生産する幅20～50nmの繊維状セルロースを含有することを特徴とする体組織癒着防止膜【請求項2】接着防止剤、血液凝固防止剤、及び蛋白分解酵素の少なくとも一種を含有することを特徴とする請求項(1)記載の体組織癒着防止膜	
【発明の詳細な説明】	
(産業上の利用分野)	
本発明は、微生物の生産するセルロースを含有することを特徴とする新規体組織癒着防止膜に関する。	

本発明の微生物の生産するセルロースの膜状のものは、その複合体として体組織の癒着防止に用いられる。

(従来の技術)

通常体内の粘膜等は、体内においてこれらの粘膜等が互いに接触している場合でも互いに接着することはなく、自由に運動することができ。例えば、腹腔内の腸管膜と腹壁腹膜とは接触してはいるが接着はしていない。ところが、このような部位に、なんらかの外的要因（例えば体内の外科手術等を行なうこと）により、炎症変化が励起されると、癒着現象がおこることがある。これは、炎症変化の回復に伴いフィブリン等が組織の接触面に沈着するためである。このため、例えば腸管等が他の部位と癒着してしまうとこれが原因で後に腸閉塞等を誘発することもあった。

このような癒着を防止する方法としては、これまでいろいろな方法が試みられている。まず、腹膜の接着を防止する目的で、グッタペルカ、ゼラチン膜等の遮蔽膜、流動パラフィン、コンドロイチン硫酸、尿素、ナイトロミン、カンフル油、オレフ油等の接着防止剤等が使用されることがあった。また、接着に関与するフィブリンの析出沈着を防止するため、ジクロマール、ヘパリン、硫酸化多糖、ジクロマール等の凝固防止剤、トリプシン等の蛋白分解酵素等を用いることもあった。また、これらの他にコルティゾン、ACTH等を投与したり、X線を照射することも知られていた。

しかし、以上いずれの方法または薬材も癒着を防止するには充分とは言えず、満足のいくような方法や薬材は現在まで知られていなかった。

(発明が解決しようとする課題)

本発明の目的は、体内の炎症変化に伴う体組織同士の癒着を防止する素材を提供することにある。

(課題を解決するための手段)

本発明の課題は、微生物の生産する幅20～50nmの繊維状セルロースが絡み合った膜状のセルロースを使用することで解決できる。

本発明の膜は、接着防止剤、血液凝固防止剤、及び蛋白分解酵素の少なくとも1種を含有してもよい。すなわち、手術時にこのセルロースで癒着の起こる可能性の高い部位を遮蔽膜として被覆すると癒着を防止することができる。また、接着防止剤、血液凝固防止剤、蛋白分解酵素等をこのセルロースに含浸することにより、炎症を防止したり癒着の原因となるタンパク質の析出沈着を阻害しさらに効果的に癒着を防止することが可能である。

本発明の原料として使用される微生物の産生するセルロースは、セルロースおよびセルロースを主顔としたヘテロ多糖を含むものおよびβ、α等のグルカンを含むものである、ヘテロ多糖の場合のセルロース以外の構成成分は、マンノース、フラクトース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノース、ウロン酸等の六炭糖、五炭糖および有機酸等である。これらの多糖が単一物質である場合もあるし、2種類以上の多糖が混在しているもよい。セルロースは上記のようなものであればなんでもよい。

このようなセルロースを生産する微生物は、特に限定されないが、一例を上げると、アセトバクター・アセチ・サブスピーシス・キシリナム (Acetobacter aceti subsp.xylinum) ATCC10821 あるいは同バストリアヌス (A.pasteurianus)、同ランセンシス (A.ransens)、サルシナ・ベントリクリ (Sarcina ventriculi)、バクテリウム・キシロイデス (Bacterium xyloides)、シュードモナス属細菌、アグロバクテリウム属細菌、リゾビウム属細菌等を利用することが出来る。

セルロースの生成蓄積のためには、上記の微生物を用いて、通常の細菌を培養する一般的な方法に従えばよい。すなわち、炭素源、窒素源、無機塩類、その他必要に応じて、アミノ酸、ビタミン等の有機微量栄養素を含有する通常の栄養培地にを添加すればよい。温度については、20℃ないし 40℃に制御し培養を行なえばよい。

培養方法としては、静置培養が一般的で上記の培地に上記の菌を接種して、1日ないし1月間培養すると培養液の表面に約 90%以上の液体成分を含んだゲル状のセルロースが生成する。この膜の厚さは 0.01 ないし 20mm である。このようにして生成されたセルロースは、液体成分とともに菌体と培地成分も含むので、希アルカリ、希酸、有機溶剤、熱水、界面活性剤等を単独あるいは組み合わせて洗浄を行うことによって、体内に入れた場合に有害な抗原性物質、発熱性物質等を除去すれば良い。

このようなセルロースは、電子顕微鏡観察によると幅 20～50nm の超微細な繊維状のセルロースが複雑に絡み合った構造を持っていることが知られている。この繊維の複雑な絡み合いの中に繊維重量の約 10～200 倍の液体成分を含んでいるので、外観はゲル状、あるいは皮革状を呈している。

またこのようにして生産されたセルロースを一旦乾燥するとゲル状のセルロースを構成している細いリボン状の繊維が水素結合で相互に膠着するため、剛直なフィルム状となるが、硬さを調整するには、グリセリンのような柔軟化剤を添加し硬さを調整してもよい。また乾燥の際、このような水素結合を起こさないように凍結乾燥、臨界点乾燥、溶剤置換後乾燥等を行なえば、剛直なフィルム状でなく多孔質のものができる。このものに生理食塩水等の液体成分を染み込ませてから使用することも出来る。

前記のようにこのようなセルロースは、繊維の間に多量の液体成分を含むことが出来るので、必要に応じて、接着防止剤、凝固防止剤、蛋白分解酵素の少なくとも一つ以上を含有させることで、癒着をさらに効果的に防ぐこともできる。

使用される接着防止剤としては、グッタペルカ、ゼラチン膜等の遮蔽膜、流動パラフィン、コンドロイチン硫酸、尿素、ナイトロミン、カンフル油、オレフ油等、凝固防止剤としては、ジクロマール、ヘパリン、硫酸化多糖、ジクロマール等、蛋白分解酵素としてはトリプシン、パニン等が用いられる。またこの他の薬剤、コルティゾン、ACTH 等を含有させてもよい。これらの薬剤を2つ以上とともに含有させて用いても良い。

含有の方法は、上記の薬剤を溶解させた液体成分に前記のセルロースを浸漬しておいたり、ゲル状のセルロースを一旦プレスして内部の液体成分を絞りだした後に浸漬したりすれ

ばよい。ゲル状のセルロースの中の液体成分は通常、親水性の溶媒である場合が多いので、親油性の溶媒にしか溶解しない成分の場合は、一旦ゲル状のセルロースの内部の液体を有機溶剤等で置換したり、界面活性剤を添加したりすることにより、薬剤の含有が可能となる。

先に述べたようにセルロースはゲル状を呈しているので、含有させた薬剤が徐々に外部にしみだしてくるというようなドラッグ・デリバリーの副次的効果もある。このような効果を積極的に利用するために、ゲル状のセルロースに他の高分子材料等を被覆したり含有させたりすることも可能である。高分子材料としては、ポリビニルアルコール系、ポリビニルピロリドン系、ポリアクリル酸系、澱粉系、セルロース誘導体系、ゼラチン、コラーゲン等の蛋白系等の高分子が2つ以上用いられる。

(実施例)

以下実施例により本発明を説明する。

実施例 1. シュークローズ 5g/dl、酵母エキス (Difco) 0.5g/dl、硫酸 0.5g/dl、リン酸 1カリウム 0.3g/dl、硫酸マグネシウム 7水塩 0.05g/dl (pH5.0) の組成の培地を 120℃、20 分間、オートクレーブした後に、アセトバクター・アセチ・サブスピーシス・キシリナム (ATCC10821) を 1×10^4 個/ml の濃度で接種した。この液をあらかじめオートクレーブしておいた 20 センチメートル平方、深さ 5 センチメートルのステンレス容器に 400ml いれ、空気中で 30℃で3日間培養した。培養液表面に約 2mm の厚さのゲル状の膜状セルロースが生成した。これを回収後、10 倍量の 2%水酸化ナトリウム溶液中で煮沸を1時間行なった。この煮沸操作を3回繰り返した。この操作により菌体と培地成分を除去された。煮沸後の膜状セルロースを過剰の水で pH が中性になるまで洗浄した。

この洗浄した膜状セルロースをラットの腹腔内の腸管と腹壁の間に挟んでから、手術後の経過を観察した。1月後に癒着の起こっているかどうかを調べたところ、セルロースを挟まなかったところは、癒着が起こったのに対し、挟んだところは、癒着が起こらなかった。また、コントロールとしてゼラチン膜を用いた場合は、ゼラチンの溶解と組織の癒着が一部分観察された。

実施例 2. 実施例 1 で調製した洗浄した膜状セルロースを 1%ヘパリン生理食塩水溶液に 10 日間漬けてから実施例 1 と同様にラットの腹腔内での癒着の生成を観察したところ癒着が防止された。また、セルロースを挟まなかった部分もセルロースからヘパリンが徐々に溶け出したため癒着が抑制された。

(発明の効果)

本発明の体組織癒着防止膜を遮蔽膜として使用することにより癒着を阻害することが出来る。また、従来の癒着防止薬剤を含まずさらに効果的に癒着防止を行なうこともできる。